

特集 2 精神疾患研究におけるヒト iPSC 研究最前線

3. 精神疾患リスクゲノムバリエントを起点とした多様な試料を用いた病態解明

奥村 啓樹^{1,2)}, 有岡 祐子^{1,3)}, 尾崎 紀夫¹⁾

抄録: 精神疾患の病態は未だ不明であり、根本治療薬の開発はできていない。精神疾患の脳病態を検討するにあたり、モデル動物を使用した場合に生じ得る脳の種差、死後脳・脳画像研究の限界も踏まえることが必要である。この状況を踏まえ、患者由来の脳神経細胞を用いた分子動態、細胞機能、神経回路レベルの解析が待望されている。近年の iPS 細胞技術の進展に伴い、生体を構成するさまざまな細胞への分化誘導法やより生体環境に近いオルガノイド培養技術が確立され、iPS 細胞は疾患研究において有力なツールとなっている。精神疾患研究においても例外ではなく、特に精神疾患発症リスクゲノムバリエントに基づくアプローチによりさまざまな知見が得られている。iPS 細胞研究により、これまでの解析手法では困難であった精神疾患発症前から発症後まで経過全体を継続的に捉えることが可能になりつつある。本稿では、精神疾患研究における iPS 細胞の位置づけ、そして iPS 細胞の加入により生まれ始めた新たなパラダイムを述べる。

日本生物学的精神医学会誌 34 (2) : 81-86, 2023

Key words : mental disorders, genetic study, iPS cell, 22q11.2 deletion syndrome, copy number variations

はじめに

精神疾患は患者自身に多大な苦痛と QOL 低下を引き起こすだけでなく、患者家族や周囲の支援者にも影響を及ぼす社会的影響の大きい疾患である。同時に、自死率の増加や身体疾患合併による平均余命の低下などをきたし、その社会的損失は膨大である。世界的にも精神疾患患者数は増加し続けており、わが国の患者数も 400 万人を超え、精神疾患は医療計画上の重要疾病の一つである。また精神疾患に起因する障害調整生命年 (disability adjusted life years : DALY) が占める割合も 1990 年の 3.1% から 2019 年には 4.9% へと増加している⁶⁾。しかしながら、統合失調症 (schizophrenia : SCZ) の母をもつ家族の「100 人の支援者・理解者よりも、母親の病気を治す 1 錠の薬が欲しい」²¹⁾ という切実な想い

に応えうる、病態に基づく根本的な治療薬開発は未だ実現できていない。

精神疾患の病態を理解するためにこれまでも多くのアプローチがなされてきた。その中でも近年報告が増えているのが疾患 iPS 細胞を用いた解析である。iPS 細胞分化誘導技術の進展により、興奮性神経細胞、抑制性神経細胞、ドーパミン作動性神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアなど脳を構成するさまざまな細胞への分化誘導が報告され、ヒト細胞を用いた分子・細胞・機能レベルでの解析が可能になった。また、*in vitro* で三次元構造を有する組織を分化誘導可能な神経オルガノイド技術が開発され、よりヒト生体組織に近い環境で病態解明研究、医薬品の薬効評価が可能となりつつある。「iPS 細胞をどのように精神疾患研究に活かすのか? そのメリットは何か?」本稿では、精

Elucidation of pathophysiology in mental disorders using diverse approaches based on disease-susceptibility variants

1) 名古屋大学大学院医学系研究科精神疾患病態解明学 (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Hiroki Okumura, Yuko Arioka, Norio Ozaki : Pathophysiology of Mental Disorders, Nagoya University Graduate School of Medicine. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

2) 名古屋大学医学部附属病院薬剤部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Hiroki Okumura : Department of Hospital Pharmacy, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8560, Japan

3) 名古屋大学医学部附属病院先端医療開発部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Yuko Arioka : Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8560, Japan

【奥村 啓樹 E-mail : h.okumura@med.nagoya-u.ac.jp】

神経疾患研究における iPS 細胞の位置づけ, そして iPS 細胞の加入により生まれ始めた新たなパラダイムを述べる。

1. 精神疾患病態解明研究における各研究手法の位置づけとメリット・デメリット

精神疾患治療薬の開発は, 多くが偶然の発見, セレンディピティに端を発している。有名な例として, 麻酔前投与薬として使用されていた抗ヒスタミン剤クロルプロマジンがある。フランスの外科医であったアンリ・ラボリが, クロルプロマジンが精神症状に作用することに気づいたのははじまりで, その後, 幻覚や妄想など SCZ の陽性症状への効果が示された。クロルプロマジンの発見以後は, クロルプロマジンの神経伝達物質受容体への作用を基にした薬の開発など既存薬剤の改良が開発の主であり, 精神疾患の病因・病態を踏まえて開発されたものではない。その大きな原因として, 未だ精神疾患の病因・病態が不明であり, 病態に基づいた治療ターゲットを特定できていないことが挙げられる。この現状を打破するため, 数多くの取り組みが現在進行形で行われていることは言うまでもない。特に, 精神症状を生み出す脳はアクセスの難しい臓器であることから, 死後脳や脳画像, モデル動物を用いた研究などさまざまなアプローチがなされている。各手法にはそれぞれ「強み」と「弱み」ともいうべき特徴があり, 互いに補い合うことでさまざまな知見が生み出されてきた。ここで精神疾患の脳病態解析に用いられている研究手法について簡単に述べる。

死後脳研究は唯一患者自身の脳組織を用いた解析を行うことが可能であり, それ自体が病態解明に多くの情報をもたらすだけではなく, 他研究により得られた示唆の検証も可能であるため非常に重要である。しかし, 死線期に生じるインパクトや加齢性変化や治療薬の影響を受けた脳から精神疾患患者の特性を抽出することは非常に難しい。また死後脳という特性上, 発症時の状態や病勢期の脳活動などの評価を検証することはできない。一方, 脳画像研究は脳構造のみならず脳機能を測定することで, 患者の生きた脳活動を観察することができ, 精神疾患患者において活動変化が起きる脳領域の特定が可能である。しかし, 詳細な分子・細胞機能レベルでの解析は難しく, 活動変化のメカニズムに迫ることは容易ではない。

死後脳・脳画像研究では難しい, 分子から細胞, 個体, 行動解析に至るまでの一連の流れを解析でき

るのがモデル動物研究である。これまでに精神疾患モデル動物としてマウスやラット, ゼブラフィッシュ, マーモセットなどさまざまな動物を用いた報告がなされてきた^{9, 19, 22)}。なかでもマウスは遺伝的バックグラウンドが統制されていることに加え, 遺伝子操作や繁殖の簡便さから汎用されている。しかし, ヒトとマウスの間には例えば大脳皮質には granular zone の有無など構造上の差異があることがわかっており, 近年では 1 細胞 RNA シーケンスにより, 細胞の構成比率, 神経細胞-グリア細胞間の細胞間相互作用, 神経細胞における遺伝子発現パターンの違いなどマクロからミクロのレベルまでさまざまな差異が存在することが明らかとなっている^{8, 12)}。また, ヒト-マウス間の差異は大脳皮質だけではなく, 自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder: ASD) や SCZ への関連が示唆^{1, 24, 26)}される小脳においても存在している。小脳発生の初期段階から層構造の有無や前駆細胞の空間配置, ヒトにおいて消失すると先天性小脳低形成因となる菱脳唇がマウスでは消失するなど多くの差異が報告されている^{10, 11, 13)}。これらヒト-マウス間の差異を考慮すると, 精神疾患病態の正確な理解にはモデル動物で得られた知見をヒト細胞・組織で検証することが必要不可欠である。

そこで脚光を浴びはじめたのが iPS 細胞である。iPS 細胞はモデル動物のような個体レベルでの解析や行動解析は難しいものの, これまでの研究手法ではアプローチすることすら難しかった患者自身の細胞を用いた分子動態, 細胞機能, 神経回路レベルの解析や, モデル動物研究で得られた知見の検証が可能である。また, 死後脳研究や脳画像研究では基本的に精神疾患発症後のサンプルが対象となるが, iPS 細胞から分化誘導した細胞は胎児~新生児期の発生段階にあたり, 精神疾患発症前における, 発症の準備段階ともいえる分子・機能変化を捉えられる可能性がある。つまり, iPS 細胞によって, 前述した死後脳研究, 脳画像研究, モデル動物研究それぞれのギャップが埋められ, 精神疾患発症前から発症後まで経過全体を分子動態変化のレベルから継続的に捉えられる可能性が出てきている (図 1)。

2. リスクバリエントを起点とした iPS 細胞を用いた精神疾患研究

iPS 細胞を用いた疾患研究において, 重要となるのが iPS 細胞の由来となった患者の背景である。iPS 細胞は患者のゲノム情報を保持しているため

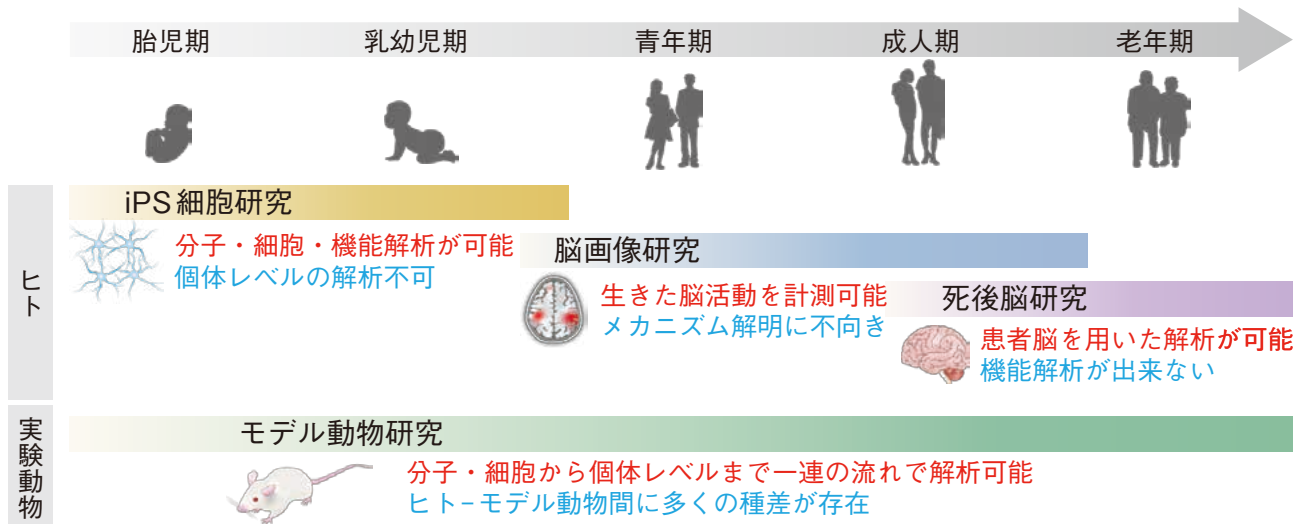


図1 精神疾患病態解明研究における各研究手法の位置づけとメリット・デメリット

ノムバリエーションが発症に強く影響する疾患の病態を再現することが可能である。精神疾患は疫学研究の結果から発症に遺伝要因が強く関与することが示唆されており、近年のゲノム解析技術の進歩により発症に関連するゲノムバリエーションが徐々に明らかとなっている。名古屋大学精神医学分野/精神疾患病態解明学では精神疾患患者を対象とした大規模ゲノム解析を実施してきた。例えばSCZ, ASD, 双極性障害 (bipolar disorder: BP) 患者を対象としたゲノムコピー数変異 (copy number variation: CNV) データの解析から、各疾患の発症に強く関与するゲノムバリエーションの同定や、SCZとASDに加え、BPにも関与するゲノムバリエーションなど、精神疾患横断的な発症リスクバリエーションの存在を明らかにしている¹⁵⁻¹⁷⁾。これらの背景から、筆者らは精神疾患発症の強いリスクバリエーションを有する患者に着目し、iPS細胞を樹立、脳を構成する神経細胞やグリア細胞あるいは大脳/小脳オルガノイドへ分化誘導し、解析を行っている^{2-4, 23)}。

発症リスクCNVの一つである22q11.2欠失はSCZ発症の50倍以上というきわめて高いオッズ比のリスクバリエーションであると同時に、ASD発症にも強く関連する精神疾患横断的なゲノムバリエーションである。そのため、22q11.2欠失を有する患者(22q11.2欠失症候群患者; 22q11.2DS患者)の脳病態を理解することが精神疾患病態解明に繋がる可能性があり、22q11.2DS患者を対象とした多くの研究が行われている。筆者らも22q11.2DS患者iPS細胞を用いた解析を進めており、22q11.2DS患者ドパミン神経細胞において小胞体ストレスセンサーの一つであるキナーゼタンパク質 (PERK) の顕著な発

現低下が認められ、小胞体ストレスに対する脆弱性が存在することを明らかにしている⁹⁾。このほかにも22q11.2DS患者では、神経細胞活動異常やミトコンドリア異常、グリア細胞系列への分化亢進、血液脳関門の脆弱性などさまざまな異常が存在することが報告されている^{7, 14, 18, 25)}。このように多くの研究者の手によって22q11.2DS患者脳病態に関する知見が蓄積され、その病態理解が進みつつある。

22q11.2DS患者脳病態の理解から精神疾患病態の解明に繋げるためには、次の段階として22q11.2DS患者より得られた病態に関するそれぞれの知見が、22q11.2DS特有の病態ではなく精神疾患発症に強く関連した病態であることを検証する必要がある。そのためのアプローチとしては22q11.2欠失以外のリスクバリエーションを有する精神疾患患者においても同様な病態が認められるか検証することであろう。そこで筆者らは、一つのゲノムバリエーションに依拠するのではなく、22q11.2欠失を始め、3q29欠失、MeCP2バリエーション、TSC2バリエーションなど複数の精神疾患発症リスクゲノムバリエーションに「共通して」存在する病態を見いだすアプローチにより、精神疾患病態の解明を試みている。

おわりに

本稿では、iPS細胞を用いた精神疾患研究の現状について概説した。iPS細胞は患者自身の細胞を用いた分子・機能レベルの解析を行うことが可能であることに優位性をもつが、成熟度が低いことや現状*in vivo*の解析が難しい点など、精神疾患研究において留意すべき点も多くある。各研究手法のメリッ

トとデメリットを踏まえたうえで、多様な視点から精神疾患病態の解明に取り組むことが重要である。

また、近年の急速な技術発達に伴い、精神疾患研究を取り巻く環境は大きく変わりつつある。特に次世代シーケンサーのシーケンス能力の進歩は目覚ましく、これまでである程度の細胞集団をバルクで検出していた RNA シーケンスが、1 細胞レベルで実施が可能となったことで微量な細胞集団の遺伝子発現や、細胞間相互作用、細胞運命決定機構など新たな解析手法も産まれている。加えて、固定組織切片から空間情報を保持したままオミクス解析が可能な空間トランスクリプトームの手法も開発され²⁰⁾、従来の病理解析が主であった死後脳研究において、新たに遺伝子発現情報を基にした新たな解析も可能になりつつある。これら最新の解析手法も積極的に取り入れ、患者とその家族の「病気を治す 1 錠の薬が欲しい」という想いに応えるべく、研究に取り組む次第である。

謝辞

本論文で触れた研究は、多数の当事者・ご家族や研究者のご協力、さらに日本医療研究開発機構 (AMED) からの支援 (JP21dk0307087, JP21wm0425007, JP21ak0101113, JP22dk0307103) 等により進めている。ご協力・ご支援を頂きました方々に御礼申し上げます。

倫理的配慮

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて、名古屋大学医学部倫理委員会の承認事項に基づく倫理的配慮のもと実施した。

利益相反

尾崎紀夫は以下の企業との COI 関係がある。

奨学寄付金：大塚製薬株式会社、住友ファーマ株式会社、第一三共株式会社、田辺三菱製薬株式会社、地球快適化インスティテュート、エーザイ株式会社、持田製薬株式会社、日本イーライリリー株式会社、日本メジフィジックス株式会社

講演・原稿謝金：大塚製薬株式会社、EA ファーマ株式会社、武田薬品工業株式会社、ヴィアトリス製薬株式会社、住友ファーマ株式会社、Meiji Seika ファルマ株式会社、株式会社ツムラ、ルンドベック・ジャパン株式会社、田辺三菱製薬株式会社、日本ケミファ株式会社

共同研究：住友ファーマ株式会社、エーザイ株式会社、株式会社リコー、地球快適化インスティテュート

コンサルティング：住友ファーマ株式会社、日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、大塚製薬株

式会社、持田製薬株式会社

文 献

- 1) Andreasen NC and Pierson R (2008) The role of the cerebellum in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 64 : 81–88.
- 2) Arioka Y, Kushima I, Kubo H, et al (2018) Induced pluripotent stem cells derived from a schizophrenia patient with ASTN2 deletion. *Stem Cell Res*, 30 : 81–84.
- 3) Arioka Y, Kushima I, Mori D, et al (2018) Three lines of induced pluripotent stem cells derived from a 15q11.2–q13.1 duplication syndrome patient. *Stem Cell Res*, 31 : 240–243.
- 4) Arioka Y, Shishido E, Kushima I, et al (2020) Cell body shape and directional movement stability in human-induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons. *Sci Rep*, 10 : 5820.
- 5) Arioka Y, Shishido E, Kushima I, et al (2021) Chromosome 22q11.2 deletion causes PERK-dependent vulnerability in dopaminergic neurons. *EBioMedicine*, 63 : 103138.
- 6) GBD 2019 Mental Disorders Collaborators (2022) Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Psychiatry*, 9 : 137–150.
- 7) Crockett AM, Ryan SK, Vásquez AH, et al (2021) Disruption of the blood–brain barrier in 22q11.2 deletion syndrome. *Brain*, 144 : 1351–1360.
- 8) Fang R, Xia C, Close JL, et al (2022) Conservation and divergence of cortical cell organization in human and mouse revealed by MERFISH. *Science*, 377 : 56–62.
- 9) Haesemeyer M and Schier AF (2015) The study of psychiatric disease genes and drugs in zebrafish. *Curr Opin Neurobiol*, 30 : 122–130.
- 10) Haldipur P, Aldinger KA, Bernardo S, et al (2019) Spatiotemporal expansion of primary progenitor zones in the developing human cerebellum. *Science*, 366 : 454–460.
- 11) Haldipur P, Millen KJ and Aldinger KA (2022) Human cerebellar development and transcriptomics : implications for neurodevelopmental disorders. *Annu Rev Neurosci*, 45 : 515–531.
- 12) Hodge RD, Bakken TE, Miller JA, et al (2019) Conserved cell types with divergent features in human

- versus mouse cortex. *Nature*, 573 : 61-68.
- 13) Kebschull JM, Richman EB, Ringach N, et al (2020) Cerebellar nuclei evolved by repeatedly duplicating a conserved cell-type set. *Science*, 370 : eabd5059.
 - 14) Khan TA, Revah O, Gordon A, et al (2020) Neuronal defects in a human cellular model of 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Med*, 26 : 1888-1898.
 - 15) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al (2018) Comparative analyses of copy-number variation in autism spectrum disorder and schizophrenia reveal etiological overlap and biological insights. *Cell Rep*, 24 : 2838-2856.
 - 16) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al (2017) High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry*, 22 : 430-440.
 - 17) Kushima I, Nakatochi M, Aleksic B, et al (2022) Cross-disorder analysis of genic and regulatory copy number variations in bipolar disorder, schizophrenia, and autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry*, 92 : 362-374.
 - 18) Li J, Ryan SK, Deboer E, et al (2019) Mitochondrial deficits in human iPSC-derived neurons from patients with 22q11.2 deletion syndrome and schizophrenia. *Transl Psychiatry*, 9 : 302.
 - 19) Miller CT, Freiwald WA, Leopold DA, et al (2016) Marmosets : A neuroscientific model of human social behavior. *Neuron*, 90 : 219-233.
 - 20) 森 大輔, 有岡 祐子, 久島 周, 他 (2023) 精神医学研究におけるゲノム解析と空間トランスクリプトームの現状 精神疾患モデルマウス・患者 iPSC 細胞を用いて. 実験医学別冊 空間オミクス解析スタートアップ実践ガイド 最新機器の特徴と目的に合った選び方, データ解析と応用例を学び, シングルセルの一步その先へ!, 羊土社, pp229-236.
 - 21) 夏苺 郁子 (2020) 石塚論文『「遺伝」を継承と多様性で語る精神科医療に』を読んで—当事者・家族の立場から補足すること—. *精神神経学雑誌*, 122 : 509-513.
 - 22) Nestler EJ and Hyman SE (2010) Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*, 13 : 1161-1169.
 - 23) Okumura H, Arioka Y, Kushima I, et al (2022) Establishment of induced pluripotent stem cells from a patient with 16p13.11 duplication and VPS13B deletion. *Stem Cell Res*, 64 : 102884.
 - 24) Sathyanesan A, Zhou J, Scafidi J, et al (2019) Emerging connections between cerebellar development, behaviour and complex brain disorders. *Nat Rev Neurosci*, 20 : 298-313.
 - 25) Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, et al (2016) Analysis of induced pluripotent stem cells carrying 22q11.2 deletion. *Transl Psychiatry*, 6 : e934.
 - 26) Wang SS, Kloth AD and Badura A (2014) The cerebellum, sensitive periods, and autism. *Neuron*, 83 : 518-532.

■ ABSTRACT

Elucidation of pathophysiology in mental disorders using diverse approaches based on disease-susceptibility variants

Hiroki Okumura^{1,2)}, Yuko Arioka^{1,3)}, Norio Ozaki¹⁾

1) *Pathophysiology of Mental Disorders, Nagoya University Graduate School of Medicine*

2) *Department of Hospital Pharmacy, Nagoya University Hospital*

3) *Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital*

The pathophysiology of psychiatric disorders is still unknown, and no fundamental treatments have been developed. Therefore, in examining the brain pathology of psychiatric disorders, it is necessary to consider possible species differences in animal models of the brain and the limitations of postmortem brain and brain imaging studies. Given the situation mentioned above, analyses at the molecular dynamics, cellular function, and neuronal circuit level using cranial neurons derived from the patients are long-awaited. With the recent development of iPS cell technology, methods for differentiation into various cell types and organoid culture techniques that more closely resemble living organisms have been established, and iPS cells have become a powerful tool in disease research. In mental disorders research, various findings have been obtained through iPS cell-based approaches, especially those based on rare mental disorder-susceptibility variants. iPS cell research is making it possible to continuously monitor the entire course of mental illness from pre- to post-onset, which has been difficult with previous analytical methods. “How can iPS cells be used for research on mental disorders? What are the benefits?” Here, we introduce the position of iPS cells in mental disorders research and the new paradigm that has begun to emerge with the enrollment of iPS cell research.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (2) : 81-86, 2023)